

В.С. Журомський, О.Я. Склярів

## Вплив вітаміну С на NO-синтазну систему за умов експериментальної виразки шлунка

*Досліджували вплив вітаміну С на зміни активності ензимів NO-синтазної системи, вміст нітрит-аніона, процеси ліпопероксидації, активність супероксиддисмутази і каталази у слизовій оболонці шлунка (СОШ), а також концентрацію L-аргініну та вітаміну С у плазмі крові щурів за умов виразки шлунка, викликаній введенням адреналіну. Вітамін С проявляв виражену антиоксидантну дію, зменшував деструктивні uszkodження, знижував активність індукцйбельної NO-синтази (iNOS), супероксиддисмутази, процеси ліпопероксидації, вміст NO, при цьому в плазмі крові підвищувалася концентрація L-аргініну. Поєднана дія вітаміну С з L-аргініном значно зменшувала uszkodження СОШ, активність конститутивної NO-синтази та вміст NO у СОШ порівняно зі впливом лише вітаміну С. За умов дії вітаміну С на тлі інгібування iNOS і циклооксигенази-2 незначно зменшувалась активність NOS і процесів ліпопероксидації, що свідчить про домінування впливу цього ефекту вітаміну С.*

*Ключові слова: аскорбінова кислота, нітрит-аніон, NO-синтази, циклооксигеназа-2, L-аргінін, процеси ліпопероксидації, експериментальна виразка шлунка.*

### ВСТУП

Вітамін С нині розглядається як один з потужних антиоксидантних чинників, який включає аскорбінову (відновлена форма) та дегідроаскорбінову кислоти (окиснена форма). Його антиоксидантна та протизапальна дія базується на здатності відновлювати супероксидний і гідроксильний радикали, пероксид водню, синглетний кисень, гіпохлоридну кислоту та пероксинітрит, що зменшує розвиток оксидативного стресу. Інший механізм дії пов'язаний з підтриманням антиоксидантної функції вітаміну Е через відновлення токофероксильного радикала до вітаміну Е у ліпідно-водному середовищі клітини, N-нітрозовмісних сполук і збереження глутатіону при оксидативному стресі [10, 11].

Виразкова хвороба шлунка зустрічається найчастіше серед патологій органів травлення у людей, незважаючи на прогрес у діагностиці та лікуванні. У зв'язку з цим вивчення патобіохімічних процесів

розвитку та пошук нових засобів профілактики та лікування є актуальним питанням. Ушкодження слизової оболонки шлунка (СОШ) за умов дії різних ульцерогенних чинників, супроводжується збільшенням кисневих радикалів, активацією ліпопероксидації NO-синтаз (NOS) [EC 1.14.13.39] та циклооксигенази-2 (ЦОГ-2) [EC 1.14.99.1]. Підвищення активності у першу чергу індукцйбельної NOS (iNOS), є одним з факторів активації процесів ліпопероксидації, внаслідок утворення пероксинітриту (ONOO<sup>-</sup>) та посилення оксидативного стресу, що викликає uszkodження компонентів клітини (мембран, цитоплазматичних білків, ДНК) [12, 20]. У розвитку виразки шлунка значну роль також відіграє посилення інфільтрації його слизової оболонки нейтрофілами, які продукують активні форми кисню, оксид азоту (NO) та прозапальні цитокіни [17].

Метою нашої роботи було вивчення впливу вітаміну С на стан системи L-аргінін–NOS–NO та процеси ліпопероксидації

за умов інгібування активності iNOS, ЦОГ-2 і введення L-аргініну при експериментальній виразці шлунка.

## МЕТОДИКА

Дослідження проводили на 60 білих безпородних щурах масою 180–200 г, згідно з вимогами етики, передбаченими положеннями Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Тварини перебували у віварії у відповідних умовах освітлення, температурного режиму та стандартного раціону. Перед проведенням досліджень вони мали вільний доступ до води впродовж 20 год.

Структурно-геморагічні ушкодження СОШ моделювали ін'єкцією адреналіну (2 мг/кг, внутрішньоочеревинно) [2]. Вітамін С (200 мг/кг) вводили внутрішньом'язово, активність ЦОГ-2 блокували цеlexоксидом (10 мг/кг, перорально), а iNOS – аміногуанідином (20 мг/кг, внутрішньоочеревинно); L-аргінін вводили у дозі 300 мг/кг інтраперитонеально. Речовини вводили одноразово за 30 хв до ін'єкції адреналіну.

Дослідних тварин було поділено на 6 експериментальних груп по 10 щурів у кожній. Тваринам першої групи (контроль) вводили 0,1 мл 0,9%-го розчину натрію хлориду інтраперитонеально, щурам другої групи – адреналін, третьої групи – вітамін С за умов експериментальної виразки, четвертої – вітамін С на тлі інгібування активності iNOS аміногуанідином, п'ятої – вітамін С і L-аргінін за умов експериментальної виразки, шостої – вітамін С на тлі інгібування активності ЦОГ-2 цеlexоксидом за умов експериментальної виразки.

Тварин декапітували та забирали матеріал для досліджень під уретановим наркозом. Досліджувані показники вивчали у гомогенаті СОШ. Активність процесів ліпопероксидації оцінювали за вмістом про-

дуктів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) [6], активність супероксиддисмутази (СОД) визначали з використанням нітротетразолію синього (НТС) за методом Чевари [7], каталази – Королюк та співавт. [3], вміст нітрит-аніона ( $\text{NO}_2^-$ ) розраховували за методом Гріна, використовуючи реактив Гріса [13].

Сумарну активність NOS визначали за методом Сумбаєва та співавт. [5]. Інкубаційне середовище об'ємом 1 мл, 0,1 М тріс-НСІ буфера, рН 7,4 (37° С) було такого складу (ммоль/л):  $\text{CaCl}_2$  – 10, L-аргініну – 4,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 5,  $\text{MgCl}_2$  – 1 та 0,1 мл гомогенату. Реакцію запускали внесенням 0,1 мл 1 ммоль/л розчину НАДФН. Контрольні проби готували аналогічно, але замість останнього додавали 0,1 мл бідистильованої води. Сумарну активність NOS оцінювали за кількістю використаного НАДФН під час реакції. Для визначення активності iNOS до складу інкубаційної суміші замість  $\text{CaCl}_2$  для зв'язування ендogenous  $\text{Ca}^{2+}$  додавали ЕДТА. Активність конститутивної NOS (сNOS) розраховували як різницю активності сумарної NOS та iNOS. Визначення проводили при  $\lambda=340$  нм на спектрофотометрі кожні 30 с протягом 3 хв. Середнє значення різниці показників світлопоглинання за 1 хв використовували для обрахунків.

У плазмі крові визначали концентрацію аскорбінової кислоти (окисненої та загальної форм) за методом Шпакова [8] та L-аргініну – Алейнікової та співавт. [1].

Структурно-геморагічні ушкодження СОШ аналізували з використанням методик планіметрії та за бальною системою. Показники площі ушкоджень (у квадратних міліметрах) та характер ушкоджень (у балах) СОШ розраховували в середньому на тварину. Статистичну обробку результатів проводили з використанням прикладної програми ANOVA Statistica. Статистично вірогідними вважали розбіжності при  $P<0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Введення адреналіну викликало структурно-геморагічні ушкодження шлунка у вигляді масивних і точкоподібних крововиливів, ерозій і виразок. При цьому площа ушкоджень становила – 46,4 мм<sup>2</sup>, характер – 22 бали. У СОШ активувалися процеси ліпопероксидації, вміст ТБК-активних продуктів підвищився з (212,4±11,6) до (330,6±13,3) мкмоль/г (на 56 %, P<0,05). Розвиток оксидативного стресу в СОШ викликав збільшення активності СОД з (18,9±7,38) до (33,7±5,5) мкмоль НСТ/хв·мг білка (на 78 %, P<0,05), активність каталази мала тенденцію до зменшення з (0,321±0,03) до (0,287±0,08) мкмоль Н<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/хв·мл (на 11 %, P>0,05).

У тварин контрольної групи загальна активність NOS у СОШ залежить від активності cNOS, тоді як активність iNOS або не визначається, або є незначною. За умов дії адреналіну спостерігалось 11-разове зростання активності iNOS з (0,558±0,235) до (1,558±0,235) нмоль НАДФ/хв·г (P<0,01; рис. 1, 2), при цьому активність cNOS підвищувалася на 58 % порівняно з інтактними тваринами. Вміст нітрит-аніона збільшився на 75 % (P<0,01; рис. 3).

Активация iNOS у СОШ призводила до зменшення концентрації L-аргініну в плазмі крові на 33 % (P<0,05; рис. 4).

Концентрація окисненої форми вітаміну С у плазмі крові мала тенденцію до

підвищення з 8,43±2,21 до 10,67 мкмоль/л ± 1,08 мкмоль/л, загальний його вміст у плазмі крові збільшився з 14,75±2,74 до 21,24 мкмоль/л ± 4,09 мкмоль/л (P>0,05; табл. 1).

Отже, за умов адреналініндукованого стресового ушкодження СОШ різко збільшувалась активність iNOS і, відповідно, загальна NOS та вміст нітрит-аніона, зменшувалася концентрація L-аргініну та спостерігалась тенденція до підвищення вмісту вітаміну С у плазмі крові. При цьому посилювалися процеси ліпопероксидації, активність СОД та дещо послаблювалася активність каталази.

Введення вітаміну С при виразкових ушкодженнях СОШ викликало зниження: площі деструктивних змін до 16 мм<sup>2</sup> (P<0,05) та характеру ушкоджень на 68 %, при цьому зменшувався вміст ТБК-активних продуктів на 27 % (P<0,05), активність СОД на 35 %; (P<0,05) та каталази на 17 % (табл. 2). Активність NOS змінювалася таким чином: cNOS мала тенденцію до зростання, а iNOS – зменшувалася на 46 % (P<0,05). При цьому вміст нітрит-аніона в СОШ знизився на 23 % (P<0,05), а концентрація L-аргініну в крові збільшилася на 107 % (P<0,01). Концентрація окисненої форми вітаміну С мала тенденцію до підвищення (на 38 %) порівняно зі впливом адреналіну. Отже, введення екзогенного вітаміну С при експериментальній виразці шлунка прояв-

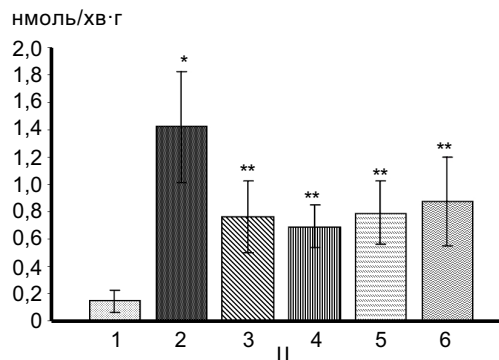
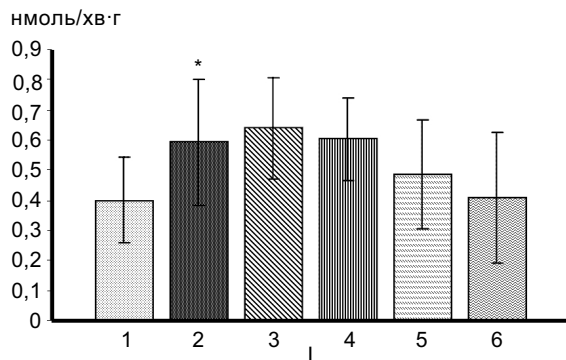


Рис. 1. Зміна активності конститутивної (I) та індукційної (II) NO-синтази при дії вітаміну С у слизовій оболонці шлунка щурів з експериментальною його виразкою: 1 – перша (контроль), 2 – друга, 3 – третя, 4 – четверта, 5 – п'ята, 6 – шоста групи. \*P<0,05 порівняно з контролем, \*\*P<0,05 порівняно з показниками при експериментальній виразці шлунка

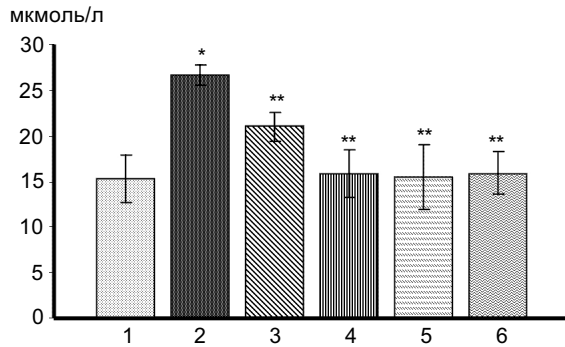


Рис. 2. Зміна вмісту оксиду азоту у слизовій оболонці шлунка при дії вітаміну С на тлі інгібування активності індукційної NO-синтази, циклооксигенази-2, введення L-аргініну у щурів з експериментальною виразкою шлунка: 1 – перша (контроль), 2 – друга, 3 – третя, 4 – четверта, 5 – п'ята, 6 – шоста групи. \* $P < 0,05$  порівняно з контролем, \*\* $P < 0,05$  порівняно з показниками при експериментальній виразці шлунка

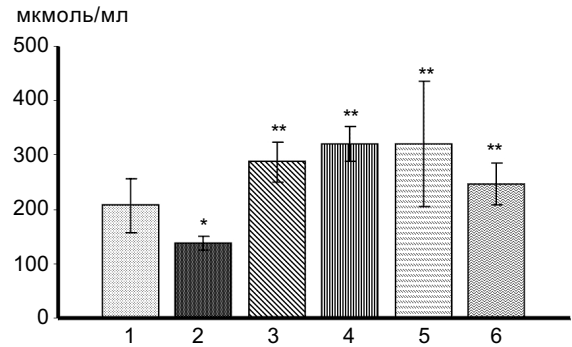


Рис. 3. Концентрація L-аргініну у плазмі крові при дії вітаміну С на тлі інгібування активності індукційної NO-синтази, циклооксигенази-2, введення L-аргініну у щурів з експериментальною виразкою шлунка: – перша (контроль), 2 – друга, 3 – третя, 4 – четверта, 5 – п'ята, 6 – шоста групи. \* $P < 0,05$  порівняно з контролем, \*\* $P < 0,05$  порівняно з показниками при експериментальній виразці шлунка

ляє виражену антиоксидантну та протизапальну дію, що супроводжується зменшенням деструктивних змін слизової оболонки, процесів ліпопероксидації та, переважно, зниженням активності iNOS. Введення вітаміну С призводило до збільшення концентрації L-аргініну та окисненої форми вітаміну С.

За умов введення вітаміну С на тлі інгібування активності iNOS аміногуанідином зменшувалася площа деструктивних змін до 6 мм<sup>2</sup> ( $P < 0,05$ ) і характер ушкоджень – на 16 %; вміст ТБК-активних продуктів, активність СОД і каталази у СОШ суттєво не змінювалися порівняно зі впливом вітаміну С на тлі дії адреналіну. Також незначно зменшувалась активність iNOS та cNOS. Вміст нітрит-аніона в СОШ знизився на 21 %. Концентрація L-аргініну

збільшилася на 11 %, вміст окисненої форми та загального вітаміну С у плазмі крові істотно не змінювалися порівняно зі впливом вітаміну С на тлі адреналін-індукованих стресових ушкоджень СОШ.

Комплексне введення вітаміну С та L-аргініну викликало зниження площі деструктивних змін до 6,71 мм<sup>2</sup> ( $P < 0,05$ ) та характеру ушкоджень – на 16 %, не призводило до виражених змін вмісту продуктів ТБК та активності СОД і каталази, активність cNOS знижувалася на 24 %, а iNOS суттєво не змінювалася; вміст нітрит-аніона зменшувався на 24 % порівняно зі впливом вітаміну С на тлі стресу. Концентрація в плазмі крові L-аргініну, окисненої і загальної форм вітаміну С істотно не змінювалися порівняно з його дією на тлі впливу адреналіну. Отже, модулювальний

Таблиця 1. Вміст вітаміну С у плазмі крові щурів з виразковими ушкодженнями шлунка (M±m)

Група тварин	Вітамін С, мкмоль/л	
	окиснена форма	загальна форма
Перша (контроль)	8,43±2,21	14,75±2,74
Друга	10,67±1,08	21,24±4,09
Третя	14,77±3,43	24,4±3,55
Четверта	13,06±1,3	22,94±2,4
П'ята	15,3±2,29	25,7±3,3
Шоста	13,4±3,26	24,2±5,85

**Таблиця 2. Зміна вмісту ТБК-активних продуктів та активності ензимів антиоксидантного захисту у щурів з виразковими ушкодженнями шлунка (M±m)**

Група тварин	Малоновий діальдегід, мкмоль/г	Супероксиддисмутаза, мкмоль НСТ/хв·мг білка	Каталаза, мкмоль H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /хв·л
Перша (контроль)	212,4±11,6	18,9±7,4	0,321±0,03
Друга	330,6±13,4*	33,7±5,5*	0,287±0,08
Третя	242,3±27,9**	21,9±4,5	0,238±0,05
Четверта	221,8±25,9**	21,2±3,4**	0,275±0,08
П'ята	228,3±26,8**	17,2±1,8**	0,253±0,06
Шоста	216,4±34,8**	22,9±5,7	0,268±0,07

Примітка. \*P<0,05 порівняно з контролем, \*\*P<0,05 порівняно з тваринами з виразкою шлунка.

вплив L-аргініну при одночасній дії з вітаміном С призводив до зменшення вмісту нітрит-аніона внаслідок зниження активності cNOS.

Вплив вітаміну С на тлі інгібування активності ЦОГ-2 зменшував площу деструктивних змін до 7,88 мм<sup>2</sup> (P<0,05) та характеру ушкоджень – на 17 %; при цьому суттєво не змінювалися вміст ТБК-активних продуктів та активність СОД; концентрація нітрит-аніона була на 22 % меншою, активність cNOS мала тенденцію до зниження, а iNOS змінювалася незначно порівняно з самостійною дією вітаміну С. Концентрація L-аргініну була меншою на 14 %, а вітаміну С у плазмі крові значно не змінювалася порівняно з його впливом на тлі дії адреналіну. Отже, дія вітаміну С на тлі інгібування активності ЦОГ-2 сприяла посиленню процесів цитопротекції, що супроводжувалося зниженням вмісту нітрит-аніона та тенденцією до зниження активності cNOS порівняно з самостійним його впливом.

Аналізуючи вплив вітаміну С на оксидативні процеси, зміну активності NOS, вміст вітаміну С і L-аргініну в плазмі крові, слід відзначити таке. Дія різних ульцерогенних чинників (аспірину, індометацину, стресу, етанолу, серотоніну) на СОШ супроводжується розвитком оксидативного стресу, зміною активності ензимів антиоксидантної системи, зменшенням вмісту вітамінів – антиоксидантів Е та С, активацією

прозапальних ензимів – iNOS і ЦОГ-2, підвищенням вмісту нітрит-аніона, пероксинітрити, простагландину Е-2, підвищенням інфільтрації СОШ нейтрофілами, збільшенням виділення прозапальних цитокінів – інтерлейкіну 1β, інтерлейкіну-6, фактора некрозу пухлин α у СОШ [14, 20]. За умов оксидативного стресу різко підвищується генерація активних форм кисню та радикалів жирних кислот, які порушують мембрани судин, секреторних клітин та епітеліоцитів, що спричиняють формування виразкових ушкоджень СОШ [4].

Різка активація NOS призводить до зменшення вмісту L-аргініну в крові. Відомо, що за умов запалення, стресу та виразкоутворення значення цього показника в плазмі крові знижується, а експресія iNOS та транспортного мембранного білка САТ-2 підвищується, що забезпечує надходження L-аргініну з позаклітинного середовища [10, 20]. При виразкових ушкодженнях загальний вміст аскорбінової кислоти та її відновленої форми, вітаміну Е та слизу у слизовій оболонці зменшувалися, тоді як вміст окисненої форми аскорбінової кислоти майже не змінювався. Однак у плазмі крові відзначалося зростання загальної та відновленої форм аскорбінової кислоти [14].

Як відомо, антиоксидантна дія вітаміну С має декілька механізмів: безпосереднє зв'язування активних радикалів (супероксидного, гідроксильного радикалів, пероксиду водню, синглетного кисню, перокси-

нітриту та гіпохлоридної кислоти), відновлення ним активних форм кисню та N-нітрозокомпонентів [11]. Непряма антиоксидантна дія аскорбінової кислоти попереджує адгезію нейтрофілів до ендотелію судин, інфільтрацію нейтрофілами СОШ і збільшення концентрації цитокінів; окрім цього відзначено, що з іншого боку вітамін С може активувати експресію mRNA антиоксидантних ензимів – СОД, глутатіонпероксидази та каталази; знижувати в СОШ експресію mRNA прозапальних цитокінів – інтерлейкіну  $-1\beta$  та фактора некрозу пухлин  $\alpha$  [14]. Одним з цитопротекторних механізмів дії вітаміну С при виразкових ушкодженнях шлунка є активація ним експресії mRNA гем-оксигенази I та трансформації його у протеїн, який виявляє протективний ефект [9].

Однією з ланок впливу вітаміну С може бути як його безпосередня дія на компоненти NOS (тетрагідроптерин, кальмодулін, ФМН, НАДФН, ФАД, гем), так і на регуляцію транскрипції. Попередніми дослідженнями показано зниження експресії iNOS у СОШ при дії вітаміну С за умов виразки [11, 16].

Введення вітаміну С на тлі ульцерогенних ушкоджень шлунка у наших дослідженнях мало виражений антиоксидантний та гастропротекторний ефекти, які супроводжувались зменшенням площі деструктивних ушкоджень СОШ, зниженням вмісту ТБК-активних продуктів, активності СОД і каталази. Новим аспектом у антиоксидантній дії цього вітаміну є його вплив на експресію ензимів системи NOS. Нами відзначено різке зменшення активності iNOS і, відповідно, вмісту нітрит-аніона в СОШ при дії вітаміну С. Зниження активності iNOS призводило до підвищення концентрації L-аргініну в плазмі крові.

Особливістю антиоксидантної дії вітаміну С у шлунку є те, що концентрація його у СОШ та шлунковому соку значно вища, ніж у плазмі крові, що зумовлено секрецію

цього вітаміну слизовою оболонкою. Високу концентрацію вітаміну С у шлунковому соку розглядають як один з факторів захисту епітеліальних клітин від ушкоджувальної дії радикалів [18]. Деструктивні ушкодження СОШ порушують механізми секреції аскорбінової кислоти слизовою шлунка, що зменшує вміст вітаміну С у шлунковому соку та слизовій оболонці та викликає підвищення його концентрації у плазмі крові. Відповідно однократне введення екзогенного вітаміну С (у дозі 200 мг/кг) незначно підвищувало його концентрацію у крові через добу, і при цьому відзначали гастропротекторний ефект. Інгибування активності iNOS, ЦОГ-2 та введення L-аргініну одночасно з вітаміном С суттєво не змінювало його концентрації у крові.

Дані літератури свідчать, що екзогенне введення вітаміну С (у дозах 10, 50 та 100 мг/кг) при експериментальній виразці підвищувало концентрацію загальної та відновленої його форм у СОШ та сироватці крові. Паралельно посилювалася цитопротекція, знижувались інтенсивність процесів ліпопероксидації, активність мієлопероксидази та продукція NOx у СОШ і плазмі крові [14].

У наших дослідах за умов поєднаної дії вітаміну С з L-аргініном знижувались активність переважно sNOS і вміст NO у СОШ. У крові збільшувалася концентрація L-аргініну, а показники плазми крові не змінювалися порівняно зі самостійним впливом вітаміну С.

До дискусійних питань відносять механізм зниження активності iNOS при введенні екзогенного L-аргініну. У багатьох дослідженнях при запальних процесах у різних органах показано, що L-аргінін проявляє цитопротекторні властивості [19]. Вважають, що зниження активності iNOS при підвищенні позаклітинної концентрації L-аргініну пов'язано з активністю кінази, котра регулює трансляцію iNOS. До зниження

активності NOS у СОШ можуть призводити інші чинники – зменшення інфільтрації нейтрофілами СОШ та надходження екстрацелюлярного аргініну в макрофаги, інгібування активності іNOS за механізмом зворотного зв'язку [17]. Відомо, що введення L-аргініну (в дозі 300 мг/кг) проявляє цитопротекторний ефект при виразкових ушкодженнях шлунка, що було пов'язано з інгібуванням процесів ліпопероксидації, зменшенням генерації нітрит-аніона нейтрофілами, котрі інфільтрують СОШ та активності загальної NOS та іNOS [17].

Інгібування активності іNOS, ЦОГ-2 і введення L-аргініну мало незначний модулювальний ефект. Це свідчить, що дія вітаміну С домінувала і була пов'язана з пригніченням активності цих прозапальних ферментів. Так, якщо самостійна дія вітаміну С зменшувала активність загальної NOS на тлі виразкових ушкоджень на 36 %, то за умов одночасного його введення з L-аргініном на тлі інгібування активності іNOS або ЦОГ-2 вона знижувалася на 6–8 %.

Відзначений взаємозв'язок активності NOS та вмісту у плазмі крові L-аргініну. Деструктивні зміни у СОШ різко підвищують активність іNOS і паралельно знижують концентрацію L-аргініну в плазмі крові. Відповідно за умов інгібування активності іNOS ця концентрація збільшувалася, що відбувалося за умов екзогенного введення вітаміну С. А це, можливо, пов'язано як із послабленням активності NOS, так і аргінази.

Цікаво, що введення вітаміну С підвищує концентрацію L-аргініну в плазмі крові, що може бути пов'язано не тільки із зменшенням активності NOS, а також, можливо, і активності інших ензимів, для яких L-аргінін є субстратом – аргінази, аргініндекарбоксилази, аргінін:гліцин-амідиотрансферази. Слід відзначити, що активність аргінази при виразкових ушкодженнях шлунка знижується [20].

Отримані нами результати свідчать, що

одним з антиоксидантних, протизапальних і некоферментних механізмів введеного вітаміну С за умови експериментальної виразки шлунка є його регуляція на активність прозапальних ензимів, у тому числі іNOS. Найбільш виражений цитопротекторний і протизапальний ефект відмічався при комплексному застосуванні вітаміну С і L-аргініну, що є підґрунтям для розгляду їх одночасного застосування для профілактики та лікування запальних процесів.

## ВИСНОВКИ

1. Деструктивні зміни у СОШ призводять до різкого посилення процесів ліпопероксидації, активності іNOS, збільшенням вмісту NO і, паралельно, до зниження концентрації L-аргініну в плазмі крові.

2. Введення вітаміну С при експериментальній виразці шлунка проявляє виражену антиоксидантну дію, що супроводжується зменшенням деструктивних змін слизової оболонки, зниженням активності іNOS та вмісту NO, послабленням процесів ліпопероксидації та активності СОД. Дія вітаміну С підвищує концентрацію L-аргініну та окисненої форми вітаміну С у плазмі крові.

3. Дія вітаміну С на тлі інгібування активності іNOS аміногуанідіном суттєво не змінювала вміст продуктів ТБК, активність СОД і каталази у СОШ порівняно з показниками при введенні цього вітаміну на тлі дії адреналіну. У СОШ незначно зменшувалась активність іNOS, сNOS і вміст NO. Концентрація в плазмі крові L-аргініну суттєво не змінювалась, а окисненої форми та загального вітаміну С була незначно менше порівняно зі впливом вітаміну С на тлі дії адреналіну.

4. Одночасна дія вітаміну С з L-аргініном призводила до вираженої цитопротекторної дії, зменшення вмісту NO внаслідок зниження активності сNOS, незначного підвищення концентрації L-аргініну у плазмі крові.

5. Экзогенне введення вітаміну С при виразці шлунка підвищувало його концентрацію у плазмі крові, на тлі інгібування активності iNOS, ЦОГ-2 і введення L-аргініну суттєво не змінювало його вміст.

6. При дії вітаміну С на тлі інгібування активності ЦОГ-2 активувалися механізми цитопротекції, процеси ліпопероксидації суттєво не змінювалися, вміст нітрит-аніона мав тенденцію до зменшення. Дія вітаміну С на тлі інгібування активності iNOS і ЦОГ-2 не виявляла вираженого впливу на активність NOS.

**В.С. Журомский, А.Я. Скляр**

### **ВЛИЯНИЕ ВИТАМИНА С НА NO-СИНТАЗ-НУЮ АКТИВНОСТЬ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЯЗВЕ ЖЕЛУДКА**

Исследовали влияние витамина С на изменение активности энзимов NO-синтазной системы, содержание оксида азота, процессы липопероксидации, активность супероксиддисмутазы и каталазы в слизистой оболочке желудка (СОЖ) и концентрацию L-аргинина, витаминов С и Е в крови крыс при язве желудка, вызванной введением адреналина. Витамин С оказывал выраженное антиоксидантное действие, снижал деструктивные поражения, активность индуцибельной NO-синтазы (iNOS), процессы липопероксидации, содержание NO и активность супероксиддисмутазы. При этом в плазме крови увеличивалась концентрация L-аргинина и витамина С. Совместное их действие уменьшало повреждения СОЖ, активность sNOS и содержание NO в СОЖ, при этом в плазме крови повышалась концентрация L-аргинина. При действии витамина С на фоне ингибирования iNOS и циклооксигеназы-2 незначительно уменьшались активность NOS и процессов липопероксидации, что свидетельствует о доминирующем влиянии этого витамина.

Ключевые слова: аскорбиновая кислота, нитрогена оксид, NO-синтазы, циклооксигеназа-2, L-аргинин, процессы липопероксидации, экспериментальная язва желудка.

**V.S. Zhurumsky, O.Ya. Sklyarov**

### **EFFECT OF VITAMIN C ON THE CONDITION OF NO-SYNTASE SYSTEM IN EXPERIMENTAL ULCER OF THE STOMACH**

We investigated the effect of Vitamin C (Vit C) on the changes of activity of the enzymes of NO-synthase system, nitric oxide content, lipoperoxidation processes, activity of SOD and catalase in gastric mucosa (GM), and concentrations of

L-arginine, Vit C and Vit E in the blood of rats under conditions of experimental ulcer of the stomach caused by adrenaline injection. Vit C displayed a pronounced antioxidant action, reduced the degree of destructive affections, diminished the activity of iNOS and lipoperoxidation processes, decreased the NO content and SOD activity. Furthermore, the concentration of L-arginine and Vit C in the blood was increased. Combined action of Vit C with L-arginine reduced the degree of GM lesions, activity of eNOS and the content of NO in GM whereas the concentration of L-arginine in blood was increased. Under conditions of Vit C action and iNOS and COX-2 blockage, the activity of NO-synthases and lipoperoxidation processes were slightly decreased, indicating on dominant action of Vit C.

Key words: ascorbic acid, nitric oxide, NO-synthases, COX-2, L-arginine, lipoperoxidation, experimental ulcer.

*Danylo Halytskyi Lviv National Medical University*

### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Алейникова Т.Л., Рубцова Г.В., Павлова Н.А. Руководство к практическим занятиям по биохимии. – М.: Медицина, 2000. – 128 с.
2. Белостоцкий Н.И. Язвеобразование в слизистой оболочке желудка крыс под влиянием катехоламинов // Патол. физиология и эксперим. медицина. – 1988. – № 1. – С. 24–27.
3. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С.16–19.
4. Скляр О.Я., Бондарчук Т.І., Мандрик Ю.В., Червінська М.С. Периферійні механізми регуляції процесів цитопротекції у слизовій оболонці шлунка. – Львів: ВМС, 2007. – 159 с.
5. Сумбаев В.В., Ясинская И.М. Влияние ДДТ на активность синтазы оксида азота в печени, легких и головном мозге крыс // Совр. пробл. токсикологии. – 2000. – № 3. – С.3–7.
6. Тимурбулатов М.А., Селезнев Е.И. Метод повышения свободнорадикального окисления липид-содержащих компонентов крови и его диагностическое значение // Лаб. дело. – 1981. – № 4. – С.209–211.
7. Чевари С., Андял Т., Штрэнгер Я. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте // Там же. – 1991. – № 10. – С.9–13.
8. Шпаков А.Е. К методике раздельного определения общей, редуцированной и дегидроаскорбиновой кислот // Там же. – 1967. – № 5. – С. 305–306.
9. Becker J.C., Grosser N., Boknik P., Schruder H., Domschke W., Pohle T. Gastroprotection by vitamin C – a heme oxygenase-1-dependent mechanism? // Biochem. and Biophys. Res. Commun. – 2003. – 312, № 2 – P.507–512.



10. Carr A., Frei B. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? // *Faseb J.* – 1999. – **13**, № 9. – P.1007–1024.
11. Deutsch J.C. Ascorbic acid oxidation by hydrogen peroxide // *Anal. Biochem.* – 1998. – **255**, № 1. – P. 1–7.
12. Flynn N.E., Meisinger C.J., Haynes T.E., Wu G. The metabolic basis of arginine nutrition and pharmacotherapy // *Biomed. Pharmacother.* – 2002. – **56**, № 9. – P.427–438.
13. Green L.C., Wagner D.A., Glogowski J., Skipper P.L., Wishnok J.S., Tannenbaum S.R. Analysis of nitrate, nitrite and [15N] nitrate in biological fluids // *Anal. Biochem.* – 1982. – **126**, № 1. – P. 131–138.
14. Kamiya Y., Ohta Y., Imai Y., Arisawa T., Nakano H. A critical role of gastric mucosal ascorbic acid in the progression of acute gastric mucosal lesions induced by compound 48/80 in rats // *World J. Gastroenterol.* – 2005. – **11**, № 9. – P. 1324–1332.
15. Li P., Yin Y.L., Li D., Kim S.W., Wu G. Amino acids and immune function // *Brit. J.Nutr.* – 2007. – **98**, № 2. – P. 237–252.
16. Nakagiri A., Sunamoto M., Murakami M. NADPH oxidase is involved in ischaemia/reperfusion-induced damage in rat gastric mucosa via ROS production – Role of NADPH oxidase in rat stomachs // *Inflammopharmacol.* – 2007. – **15**, № 6. – P. 278–281.
17. Ohta Y., Nishida K. L-arginine protects against stress-induced gastric mucosal lesions by preserving gastric mucus // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2002. – **29**, № 1–2. – P. 32–38.
18. Waring A.J., Drake I.M., Schorah C J, White K.L., Lynch D.A., Axon A.T., Dixon M.F. Ascorbic acid and total vitamin C concentrations in plasma, gastric juice, and gastrointestinal mucosa: effects of gastritis and oral supplementation // *Gut.* – 1996. – **38**. – P. 171–176.
19. Wu G., Bazer F.W., Davis T.A., Kim S.W., Li P., Marc Rhoads J., Carey Satterfield M., Smith S.B., Spencer T.E., Yin Y. Arginine metabolism and nutrition in growth, health and disease // *Amino Acids.* – 2009, № 1. – P. 153–168.
20. Yadav S.K, Adhikary B., Maity B. The gastric ulcer-healing action of allylpyrocatechol is mediated by modulation of arginase metabolism and shift of cytokine balance // *Eur. J. Pharmacol.* – 2009. – 614, Les1-3. – P.106–113.

*Львів. нац. мед. ун-т ім. Данила Галицького*  
*E-mail: sklyarov@meduniv.lviv.ua*

*Матеріал надійшов до*  
*редакції 02.08.2010*